

VERMINDERUNG BEI HORMONELL INDUZIERTEN
LIPOLYTISCHEN AKTIVITÄT DER FETTZELLE
DES ADIPOSEN IM VERGLEICH ZUM
NORMALGEWICHTIGEN

Magdalena Zrenner

1976



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41553810_0061

AUS DER II. MEDIZINISCHEN KLINIK DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Direktor: Professor Dr. E. Buchborn

VERMINDERUNG DER HORMONELL INDUZIERTEN
LIPOLYTISCHEN AKTIVITÄT DER FETTZELLE DES ADIPÖSEN
IM VERGLEICH ZUM NORMALGEWICHTIGEN



Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Magdalena Zrenner
aus München

1976

Berichterstatter: Professor Dr. K. Schwarz

Dekan: Professor Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 27.7.1976



DISSERTATIONS- UND FOTODRUCK FRANK oHG
8 München 2, Gabelsbergerstraße 15, Tel. 2 8 0 9 0 9 0

MEINEN ELTERN

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
I. Einleitung	1
II. Methodik und Technik	2
1. Gewinnung des Fettgewebes	2
2. Isolierung der Fettzellen	4
3. Inkubation der Fettzellen mit Adrenalin und Trijodthyronin	6
4. Messung der Lipolyse	8
a) Glycerinbestimmung	8
b) Bestimmung der nichtveresterten Fettsäuren	9
5. Bezugsgrößen und ihre Bestimmung	10
a) DNA-Isolierung	10
b) DNA-Bestimmung	11
c) Erstellung der DNA-Eichkurve	12
d) Berechnung des DNA-Gehaltes	14
e) Fettgewebsgewicht als Bezugsgröße	14
III. Ergebnisse	16
1. Lipolyse in μg Glycerin/ μg DNA	16
a) Basallipolyse	17
b) Adrenalin-stimulierte Lipolyse	17
c) L-T ₃ -stimulierte Lipolyse	18
d) Lipolyse nach Stimulation mit Adrenalin in Kombination mit L-T ₃	19

2.	Lipolyse in mVal NFS/ μ g DNA	20
3.	Lipolyse auf Fettgewebsgewicht in Gramm bezogen	23
4.	Zusammenfassung der Ergebnisse	27
IV.	Diskussion	29
1.	Zellimmanente Lipolysebereitschaft	29
2.	Reaktion der Fettzellen auf Adrenalin	31
3.	Reaktion der Fettzellen auf L-T ₃	34
4.	Reaktion der Fettzellen auf Adrenalin in Kombination mit L-T ₃	36
V.	Zusammenfassung	40
	Literaturverzeichnis	
	Anhang	
	Lebenslauf	

VERZEICHNIS DER ABKÜRZUNGEN

FZS	Fettzellsuspension
NFS	nichtveresterte Fettsäuren
mVal	Milli-Äquivalent
μ Mol	Mikro-Mol
μ g	Mikro-Gramm
DNA	Desoxyribonukleinsäure
L-T ₃	Trijodthyronin
Adr.	Adrenalin
A	adipös
N	normalgewichtig
Glyc.	Glycerin
cAMP	Adenosin-3'-5'-Monophosphat
HSL	hormonsensitive Lipase

I. EINLEITUNG

Adipositas ist in Anbetracht ihrer Spätfolgen eine behandlungsbedürftige Erkrankung. Gewichtsreduktion durch niederkalorische Ernährung oder Nulldiät in schweren Fällen hat sich als Therapeutikum der Wahl längst erwiesen.

Ein noch ungeklärtes Kapitel ist die Hormonbehandlung als Unterstützung der diätetischen Maßnahmen. So ist eine gesteigerte Lipolyse bei Fastenden durch kleine Gaben von Schilddrüsenhormon bekannt (33).

Voruntersuchungen (4) an isolierten menschlichen Fettzellen gaben einen Hinweis, daß vielleicht die Zellen Adipöser weniger empfindlich auf Trijodthyronin reagieren als die Normalgewichtiger. Eine ähnliche Reaktionsweise dieser Fettzellen auf Insulin ist bereits aus Untersuchungen ihres Glucosestoffwechsels bekannt (20).

In der vorliegenden Studie wurde nun die unstimulierte, zelleigene Lipolysebereitschaft von Fettzellen adipöser und normalgewichtiger Personen und die Stimulierbarkeit dieser Zellen durch die lipolytischen Hormone Adrenalin, $L-T_3$ und die Kombination beider Hormone untersucht.

II. METHODIK UND TECHNIK

1) Gewinnung des Fettgewebes

Zur Durchführung der Versuche wurde ausschließlich Subcutan-fettgewebe der Bauchdecken in einer Menge von 4-8 gr. verwendet. Es stammte von Laparatomien in der chirurgischen Klinik. Berücksichtigt wurde bei der Auswahl der Spenderpatienten - neben Größe und Gewicht - Diagnose, Nebendiagnose und derzeitige Medikation. Fettgewebe von Patienten mit konsumierenden Erkrankungen und endokrinologischen Erkrankungen (Diabetes mellitus, Schilddrüsenfunktionsstörungen, hormonaktive Tumoren), sowie von akut chirurgisch erkrankten und Schockpatienten wurde nicht verwendet. Im Hinblick auf die zu untersuchende lipolytische Antwort der Fettzellen auf einen hormonellen Stimulus sollte jede veränderte Stoffwechselsituation ausgeschlossen werden. Es bot sich Fettgewebe von vollnarkotisierten Patienten an, da dies, wie aus vorhergehenden Versuchen ersichtlich ist, keinen Einfluß auf die lipolytische Aktivität des Gewebes nimmt (1), im Gegensatz zu Fettgewebe aus lokalanästhesierten Gewebeproben (2).

Die Entnahme des Fettgewebes mußte in 3-7 min nach dem Hautschnitt erfolgt sein, um eine zu starke Abkühlung des Fettes im Operationsgebiet und damit ein Absinken der Stoffwechselaktivität zu vermeiden. Die Dauer des narkotisierten Zustandes der Spender sollte dennoch die 45 min. Grenze nicht überschreiten, da die später gemessenen extrem niedrigen

Lipolysewerte in diesen Fällen auf eine Suppression des lipolytischen Systems hinwiesen. Folgende Zeitabläufe wurden in der Regel eingehalten: 7.10 Uhr Prämedikation des Patienten (Dolantin, Atosil, Atropin); 8.10 Uhr Intubationsnarkose, anschließend Beatmung der Patienten mit N_2O, O_2 , Halothan. Gelegentlich wurde bei entsprechender Indikation Fentanyl verwendet. Die gelegentlich beschrieben vermehrte Catecholaminausschüttung (3) bei Fentanylnarkose spricht mehr für eine aus einer Unterdosierung des Narkotikums resultierenden Schmerzrezeption; 8.20 Uhr Hautschnitt; 8.25 Uhr Entnahme des Gewebstückchens mit sofortiger Inkubation in einem Packardgefäß mit 3 ml $37^{\circ}C$ warmer KRB-Albumin-Pufferlösung (1a); Transport dieses Gefäßes in einem Dewargefäß mit $37^{\circ}C$ warmem Wasser. Präparation der Gewebprobe mit der Schere in einer Kunststoff-Petryschale mit dem verwendeten Inkubationsmedium (Entfernung von sichtbarem Bindegewebe, Hautteilen, Gefäßrückständen, Koagulationsrückständen) und Zerschneiden in ca. erbsgroße Teilchen; Abwiegen des Inkubationsgefäßes mit der Collagenaselösung (1b) und den abgetupften Teilchen. 8.40 Uhr Beginn der ersten Inkubation zur Zellisolierung im Köttermann-Schüttelgerät bei $37^{\circ}C$ für die Dauer von 60 min.

Die Gewinnung des Fettgewebes verlief ohne Schwierigkeiten. Zur Verwendung kam schließlich Fettgewebe von einem Kollektiv Normal- bzw. Idealgewichtiger Patienten und einem Kollektiv solcher, die ihr Idealgewicht um mehr als 20% überschritten

hatten. Excessiv adipöse Patienten werden, falls es sich nicht um akute Fälle handelt, kaum operiert. Bei besonders mageren Menschen konnte, im Hinblick auf das kosmetische Ergebnis der Subcutan- und Hautnaht, selten Fett in ausreichender Menge erhalten werden.

2) I s o l i e r u n g d e r F e t t z e l l e n

Die Zellisolierung wurde durchgeführt in Anlehnung an die vorhergehenden Versuche von KRICK und SCHNEIDER nach der modifiz. Methode von RODBELL (2,5). Bei den Manipulationen mit Fettzellen dürfen grundsätzlich keine Glasgerätschaften verwendet werden, da sie durch Haften an der Glasoberfläche zugrunde gehen. In einem Packardgefäß mit 4 ml 37°C warmen Albuminpuffer wurden 20 mg Collagenase gelöst, die Fettgewebsteilchen hineingegeben und für 60 min. bei 37°C im Kötterman-Schüttler inkubiert. Nach dieser Prozedur wurde das Fett - nunmehr eine breiige Masse mit unterschiedlich angedautem Bindegewebe durchsetzt- durch eine einfache Lage Verbandsgaze in eine Kunststoff-Spritze (20 ml) passiert. Dabei wurde mit Inkubationsmedium nachgespült, um im Sieb hängengebliebene Zellen noch mitzugewinnen. Die Ausbeute war von Versuch zu Versuch gering unterschieden, je nach Qualität des Gewebes. In der Regel erhielt man eine 1,5 bis 2,5 cm dicke Zellschicht, die sich auf der Inkubationsmedium rasch nach oben absetzte. Diese wurde mit Albuminpuffer auf

12 ml aufgefüllt, durch einmaliges Umkippen durchmischt und 30 sec. lang bei 200 bis 300 U/min. zentrifugiert. Der collagenasehaltige Unterstand, dem auch gelegentlich noch Erythrozyten und Zelldetritus beigemischt war, wurde jeweils abgelassen, durch Albuminpuffer ersetzt, erneut durchmischt und zentrifugiert. Drei- bis viermal wurde dieser Waschvor-

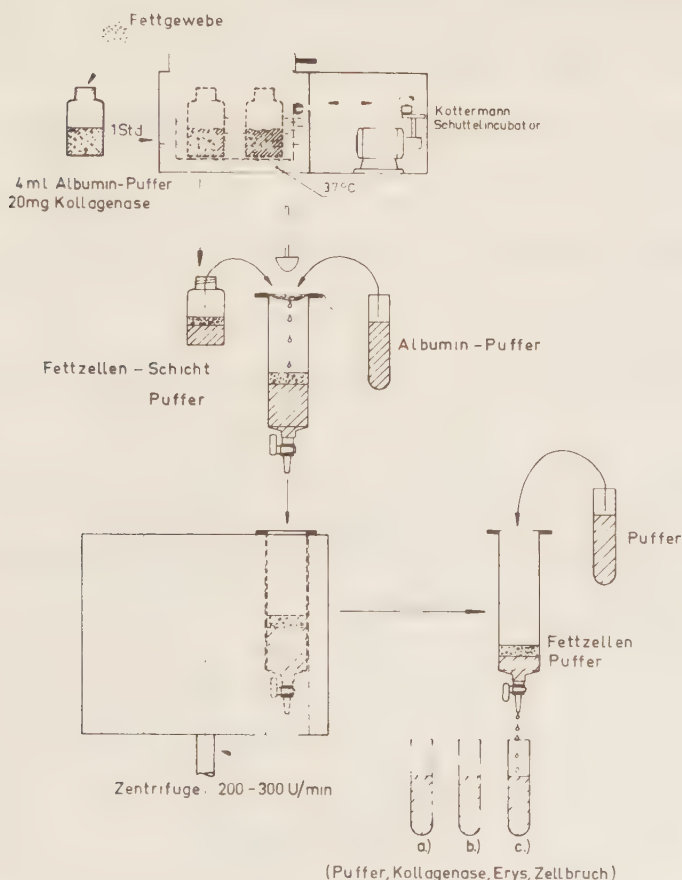


Abb. 1 Isolierung der Fettzellen

gang wiederholt, bis der Unterstand klar und hellgelb war. Um einen Überblick über den Zellverlust beim Waschvorgang zu gewinnen, wurden die Eluate aufgehoben, an deren Oberfläche sich dann noch Fettzellen absetzen konnten. Einen weiteren Zellverlust bedeutete Zellzerstörung durch alle manuellen Vorgänge oder Zellzerstörung in der Zentrifuge. Er wurde ersichtlich aus einem gelben, klaren Triglyceridring unterschiedlicher Breite über der Fettzellschicht. Durch die Voruntersuchungen konnte der unvermeidliche Zellverlust durch die geschilderten Vorgänge auf ein zu vernachlässigendes Minimum reduziert werden. Die Dauer des gesamten Waschvorganges betrug maximal 10 min., eine Verzögerung war wegen zu starker Abkühlung der Zellsuspension zu vermeiden.

3) I n k u b a t i o n d e r F e t t z e l l e n m i t A d r e n a l i n u n d T r i j o d t h y r o n i n

Nach dem letzten Auffüllen der Fettzellen mit Inkubationsmedium auf 12-14 ml wurde jeweils 1 ml dieser Suspension in acht folgendermaßen vorbereitete Packardgefäße gegeben:

- | | | | |
|--------------|---|---|----------|
| 2 Proben AA: | 2 ml Inkub.Medium | + | 1 ml FZS |
| 2 Proben BB: | 1 ml A.P. + 1 ml Adrenalinlsg.
(4×10^{-6} M) (1c) | + | 1 ml FZS |
| 2 Proben CC: | 1 ml AP + 1 ml L-T ₃ -Lsg.
(5×10^{-6} M) (1d) | + | 1 ml FZS |
| 2 Proben DD: | 1 ml Adrenalin Lsg.
+ 1ml L-T ₃ -Lsg. | + | 1 ml FZS |

Vor jedem Einpipettieren wurde durch einmaliges Umkippen eine möglichst gleichmäßige Zellkonzentration im Medium zu erreichen versucht.

Es folgte nun die weitere Inkubation im Köttermann - Schüttler für die Dauer von 90 min. bei 37°C . Nach Ablauf dieser Reaktionszeit wurde der Inhalt der Reaktionsgefäße in 3 ml Polyäthylenröhrchen umgegossen und, nach Absetzen der Zellschicht nach oben, der Unterstand mit langen Kanülen abge-

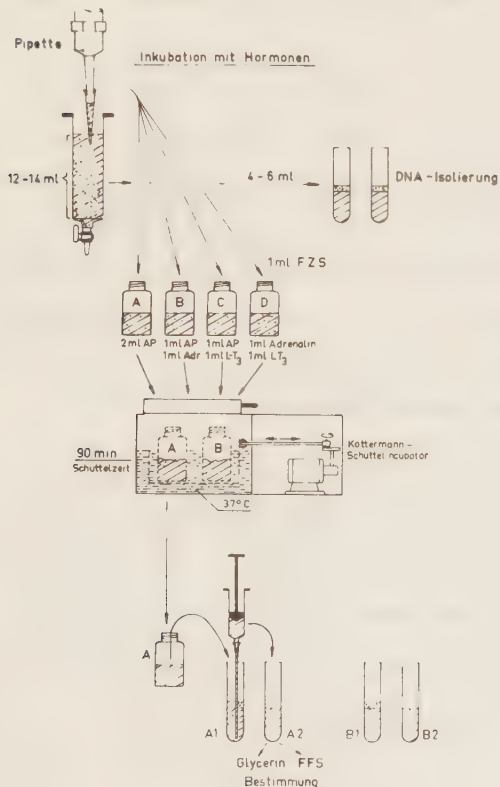


Abb. 2 Inkubationsmodus der Fettzellen mit den Hormonen

saugt und zur Bestimmung der stattgefundenen Lipolyse verwendet.

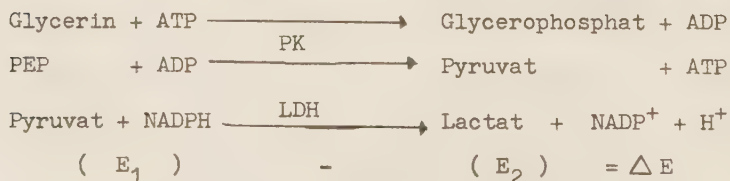
4) M e s s u n g d e r L i p o l y s e

Die Bestimmung von Glycerin und nichtveresterten Fettsäuren als Parameter der Lipolyse wurde entweder im Anschluß an die Inkubation durchgeführt oder einige Tage später aus den eingefrorenen und wiederaufgetauten Proben.

a) Glycerinbestimmung

Gewählt wurde die Methode von KREUTZ (6). In die Küvette werden 2,3 ml Puffer; 0,2 ml NADPH ATP-PEP-Lsg.; 0,5 ml Probe; 0,3 ml LDH-PK-Lsg. gegeben und die Extinktion (E_1) bei 334 nm gegen einen Leerwert mit Aqua bidest gemessen und vermerkt. Nach Zugabe von 0,02 ml Glycerokinase und Abwarten einer Reaktionszeit von 5 min. zeigt die nun gemessene Extinktionsabnahme ($E_1 - E_2$) die verbrauchte NADPH-Menge an, die der in der Probe befindlichen Glycerinmenge äquivalent ist.

Ablauf der chemischen Reaktion:



$\Delta E - E_L$ entspricht dann nach der Berechnung

Konzentration von Glycerin/Probe ($\mu\text{Mol/ml}$) =

$$E \times 3,05 \text{ ml K vetteninhalt} \times \text{Extinktionskoeff.} \times \frac{1}{0,5 \text{ ml}}$$

$$= \frac{E \times 1,001642 (\mu\text{Mol/ml})}{}$$

$$\text{wobei Ext.Koeff.} = \frac{\mu\text{g}}{6,09 \text{ ml}}$$

b) Bestimmung der nichtveresterten Fettsäuren

Die NFS werden calorimetrisch nach DUNCOMBE (7,8) bestimmt.

2,5 ml $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3 \text{H}_2\text{O}$ + 0,5 ml Probe + $\frac{5 \text{ ml Chloroform}}{\text{Extrakt. d. NFS als Cu-Salze}}$

NFS - Kupfersalze $\xrightarrow{\text{DDT}}$ Kupferkomplex $\xrightarrow{\text{photometr. Bestimmung}}$

bei 436 nm gegen einen Leerwert von Aqua bidest.

Berechnung:

$$\text{Konzentr. NFS/Probe} = \frac{400 \text{ mval/ml}}{\text{Extinkt.Standard}} \times \text{Ext. Probe}$$

Zusätzlich wurde pro Versuch eine Probe mit dem als Inkubationsmedium verwendeten Albuminpuffer mitbestimmt, und dessen Gehalt an NFS von der Konzentration der NFS in den Fettzellproben abgezogen, da die einzelnen Chargen des dazu verwendeten Rinderalbumins unterschiedlichen NFS-Gehalt aufweisen.

5) Bezugsgrößen und ihre Bestimmung

Wie aus der Arbeit von SCHNEIDER hervorgeht, kann die an sich naheliegende Bezugsgröße, die Anzahl der Fettzellen in einem bestimmten Volumen, nicht herangezogen werden. So scheitert ein genaues Auszählen in der Kammer an der Größe der menschlichen Fettzelle und der daraus resultierenden ungleichen Verteilung im Medium und in der Kammer. Der quantitative Nachweis durch Nativfärbung der Zellen ist wegen der unterschiedlichen Größe der Einzelelemente und deren unsicherer Definierbarkeit nicht heranzuziehen (4).

Eine präzise Bezugsgröße dagegen stellt nun der DNA-Gehalt der einzelnen FZS-Proben dar. Da jeder Kern die gleiche Menge DNA enthält, steht sie in Relation zur Zellzahl. Zur Ermittlung dieser Bezugsgröße wurde nun für jeden Versuch aus einem bekannten Volumen die DNA parallel zum Inkubationsvorgang isoliert.

a) DNA - Isolierung nach der Methode von MARMUR (9,10)
Verwendet wurde der nach der Inkubation verbleibende Rest von 4-6 ml FZS, verteilt auf 2-3 Proben à 2 ml (entsprechend dem Volumen v (Sh.unten). Zur Inaktivierung von DNA-sen wurde das Inkubationsmedium abgesaugt und durch Saline-EDTA-Puffer ersetzt (2e). Die folgende Zugabe von 0,2 ml Natrium-lauryl-sulfat, das auch die Funktion eines Detergens erfüllt,

führte über eine Denaturierung von Oberflächenproteinen zur Zellysis (2a). Die Probe wurde scharf zentrifugiert (2500 U/min), 10 min in 60°C warmem Wasserbad inkubiert, mit 0,08 ml Natriumperchlorat (2b) und 4 ml Chloroform/Isoamylalkohol (2c) versetzt und 20 min lang dreidimensional geschüttelt. Diese Prozedur führte weiter zur mechanischen Zellzerstörung und zur chemischen Abtrennung denaturierter Zell- und DNA-Trägerproteine. Nach weiterem scharfen Zentrifugieren hatte sich zwischen einem Ring aus Detritus eine unterständige Chloroformphase und eine obere wässrige Phase (w s.u.) gebildet, aus der nach Zugabe von 15-20 ml Äthylalkohol die DNA ausgefällt werden konnte. Die Phase, aus der die Triglyceride bestimmt werden konnten, wurde verworfen (4). Das nach Zentrifugieren (2500 U/min) und Absaugen des Äthylalkohols entstandene DNA-Sediment wurde mit einer an die Wasserstrahlpumpe angeschlossenen Trockenvorrichtung innerhalb von drei bis 4 Stunden getrocknet. Zu rascher Feuchtigkeitsentzug würde zur Verklumpung des Sediments und damit zu erschwerter Löslichkeit führen. Nach dem Auflösen der so erhaltenen Trockensubstanz mit 0,09 ml konzentriertem Citratpuffer und 0,91 ml verdünntem Citratpuffer (2f) wurde die DNA-Lösung der photometrischen Bestimmung zugeführt.

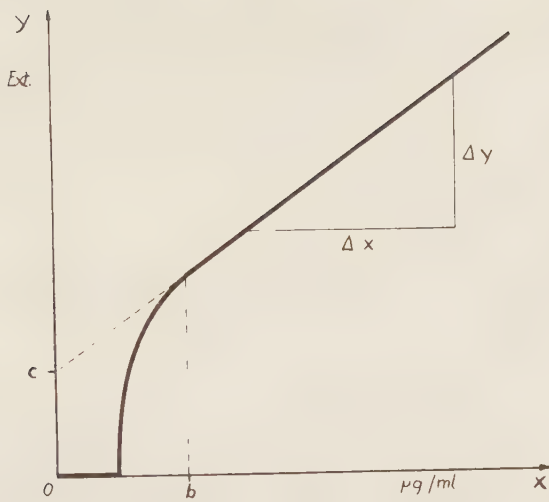
b) DNA-Bestimmung nach der modifizierten Diphenylamin-Methode nach CERIOTTI (11).

Diese Methode wird mit einem Konzentrationsmeßbereich bis kleiner als 1,6 µg/ml angesehen, was für die geringen Aus-

gangssuspensionsvolumina dieser Versuchsreihe erforderlich ist. Als Farbreagens wurde den Proben nun je 0,5 ml Indol-lösung (2d) und 0,5 ml konzentrierte HCl zugesetzt. Nach 10minütiger Inkubation in kochendem Wasserbad und folgender Abkühlung wurde den Proben zur Extraktion verunreinigender Farbstoffe, die Indol mit einigen Zuckern bildet, 2,5 ml Chloroform beigegeben. Die Proben wurden durchmischt und 5 min bei 2500 U/min zentrifugiert. Der dann abpipettierte Überstand wurde dieser Prozedur solange unterzogen, bis seine Farbe von rosa nach hellgelb umgeschlagen war. In einer 0,5 ml Absaugküvette erfolgte anschließend die Messung der Extinktion bei Blende 1 x 4 bei 492 nm gegen einen Leerwert mit Citratpuffer(12,11).

c) Erstellung der DNA-Eichkurve

Da die Extinktion einer Probe nun auf Extinktionswerte bekannter Konzentrationen bezogen werden muß, wird aus einer DNA-haltigen Eichlösung (2g) eine Verdünnungsreihe hergestellt mit den Konzentrationen 5, 2.5, 1.25, 0.625 µg/ml. Diese Eichproben werden in gleicher Weise und zu gleicher Zeit wie die Versuchsproben bestimmt und aus ihren Extinktionen eine Eichkurve mit der Abszisse y = Konzentration und der Ordinate x = Extinktion erstellt. Die Schnittpunkte von x und y ergeben eine Gerade, über deren Steigung der Extinktion einer Versuchsprobe je eine Konzentration zugeordnet werden kann.



$$x \geq b : y = ax + c$$
$$y' = a = \frac{dy}{dx} = \frac{\Delta y}{\Delta x}$$

Abb. 3 DNA - Eichkurve

d) Berechnung des DNA-Gehaltes in $\mu\text{g/ml}$ FZS

Die Berechnung erfolgte nach folgender Formel:

$$y_{\text{Probe}} = \frac{v \cdot w \cdot x}{4 \text{ ml}^2} \text{-----} \quad (\mu\text{g/ml})$$

w = Volumen der wässrigen Phase in ml

v = Ausgangsvolumen der FZS in ml

x = Konzentration von DNA/ml Probe, aus der Eichkurve abgelesen

4 ml = 3 ml FZS

+ 0,2 ml Na-lauryl-sulfat

+ 0,8 ml Na-Perchlorat

Der für y ermittelte Wert wurde zur weiteren Bestimmung der Lipolyse verwendet.

Die Problematik dieser sehr spezifischen Methode lag im nur geringen Ausgangsvolumen der FZS und dem somit geringen Volumen der wässrigen Phase, das während des Farbextraktionsvorgangs immer weiter abnahm. Dadurch wurde bei der photometrischen Bestimmung ein gutes Vorspülen der Küvette vor den einzelnen Messungen erschwert.

e) Fettgewebsgewicht als Bezugsgröße

Wegen der relativ großen Schwankungsbreite der Meßergebnisse bei den einzelnen Versuchen wurden alle gewonnenen Werte zusätzlich auf das Gewicht des inkubierten Fettgewebes (in Gramm) bezogen. Es sei darauf hingewiesen, daß diese Bezugsgröße nicht unerheblichen Einflüssen unter-

worfen war (unterschiedlicher Bindegewebsanteil, Zelltod durch Abkühlung der äußeren Schicht, Zellverluste durch Manipulationen während des Isolierens). Dennoch soll sie an gegebener Stelle als Kontrollwert herangezogen werden.

III. ERGEBNISSE

Von den insgesamt 39 durchgeführten Versuchen kamen 12 zur Auswertung, die sich aus zwei Gruppen von 7 Normalgewichtigen und fünf adipösen Patienten zusammensetzten. Die Auswahl wurde getroffen nach vergleichbarem DNA-Gehalt und passender Zuordnung von gleichaltrigen, gleichgeschlechtlichen Normalgewichtigen zu den Adipösen.

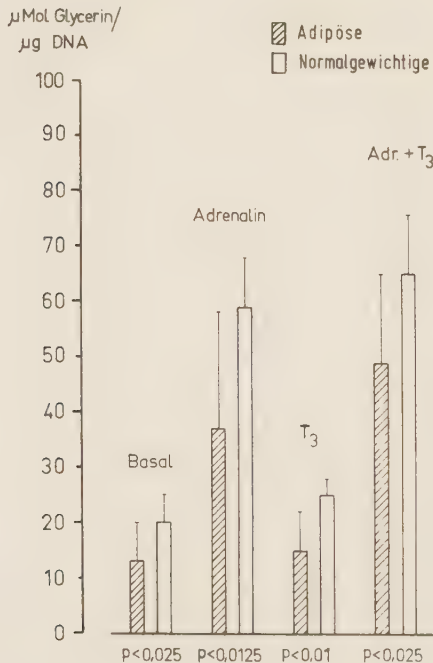


Abb. 4 Gesamtüberblick über basale und hormonell stimulierte Lipolyse bei beiden Kollektiven.

Studie die aus vorhergehenden Versuchen bekannte lipolytische Wirkung der Hormone Adrenalin, L-T₃ und die Kombination beider nachweisbar (2).

a) Basallipolyse

Vergleicht man beide Gruppen miteinander, so findet man bereits eine gesteigerte Basallipolyse im Fettgewebe normalgewichtiger Spender.

b) Adrenalin-stimulierte Lipolyse

Hier zeigt sich in Abb. 4 und 5 ein signifikanter

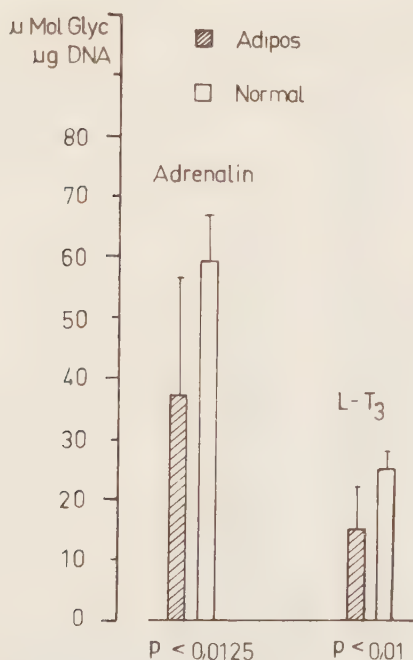


Abb. 5 Verhalten der Fettzellen beider Gruppen nach Adrenalin (4×10^{-6} molar) und L-T₃ (5×10^{-6} molar).

Unterschied in der Reaktion der Fettgewebszellen beider Gruppen: Die lipolytische Wirkung des Adrenalins ist auf die Fettzellen Normalgewichtiger größer als auf die der Adipösen.

c) L-T₃-stimulierte Lipolyse

Am deutlichsten zeigt sich die unterschiedliche Reaktion des Fettgewebes beider Gruppen bei der isolierten Inku-

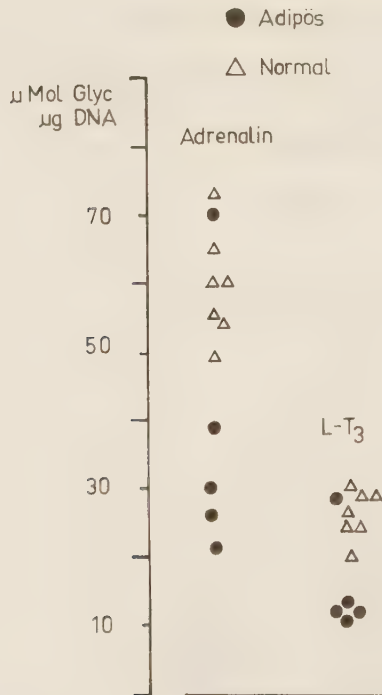


Abb. 6 Graphische Darstellung der gemessenen Einzelwerte in $\mu\text{Mol Glyc}/\mu\text{g DNA}$ nach Inkubation der Fettzellen mit Adrenalin (4×10^{-6} molar) und L-T₃ (5×10^{-6} molar)

bation der Zellen mit $L-T_3$. Die lipolytische Aktivität ist, wie Abb. 5 zeigt, in den Fettzellen normalgewichtiger Patienten signifikant erhöht.

d) Lipolyse nach Stimulation mit Adrenalin in
Kombination mit $L-T_3$

Auch bei der Kombination beider Hormone ist ein gesteigerter lipolytischer Effekt in den Zellen Normalgewichtiger zu erkennen, wie Abb. 4 erkennen läßt.

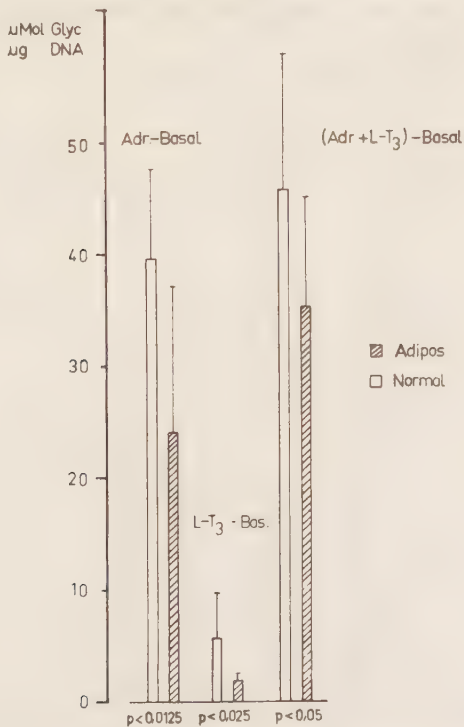


Abb. 7 Anstieg der hormonell stimulierten Lipolyse über das Basalniveau hinaus.

In Abb. 7 wurde die Basallipolyse jeweils von den nach Stimulation gemessenen Werten abgezogen. Hier ergibt sich eine leichte Abweichung der Signifikanzen. Die Tendenz zu einer gesteigerten lipolytischen Aktivität in den Fettzellen Normalgewichtiger bleibt jedoch deutlich zu erkennen.

2) L i p o l y s e i n mVal NFS/ μ g DNA

Als weiterer Parameter der Lipolyse wurden zusätzlich die NFS bestimmt und nach Bezug auf den DNA-Gehalt der Zellen statistisch ausgewertet.

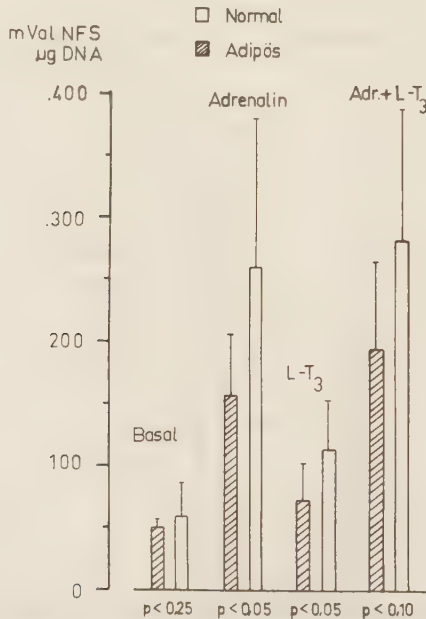


Abb. 8 Gesamtüberblick über basale und hormonell stimulierte NFS-Freisetzung aus den Zellen beider Spendergruppen.

Ein signifikanter Unterschied zwischen beiden Kollektiven ergab sich hier bei keiner Probe, auch nicht nach Berechnung des Anstiegs der Basallipolyse nach Stimulation. Dennoch ist der Trend zu einer gesteigerten lipolytischen Aktivität - basal wie unter hormonellem Einfluß - bei den Zellen normalgewichtiger Patienten eindeutig vorhanden.

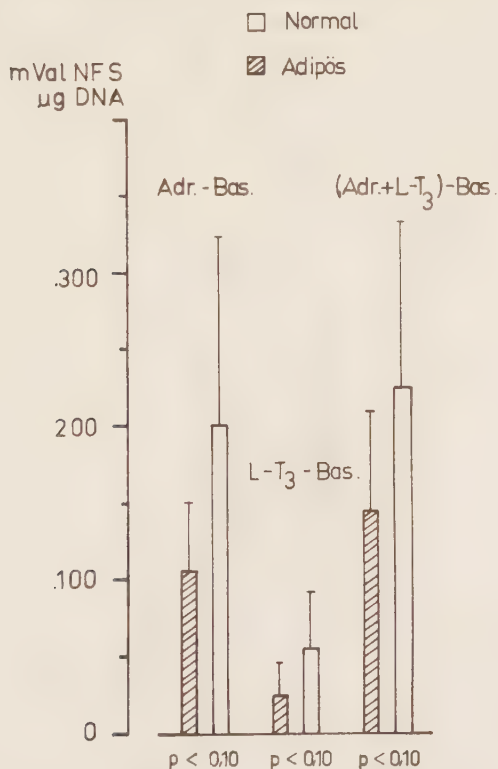


Abb. 9 Anstieg der hormonell stimulierten NFS-Freisetzung über das Basalniveau hinaus.

Am deutlichsten divergieren beide Gruppen in ihrer Reaktion unter Adrenalin und L-T₃.

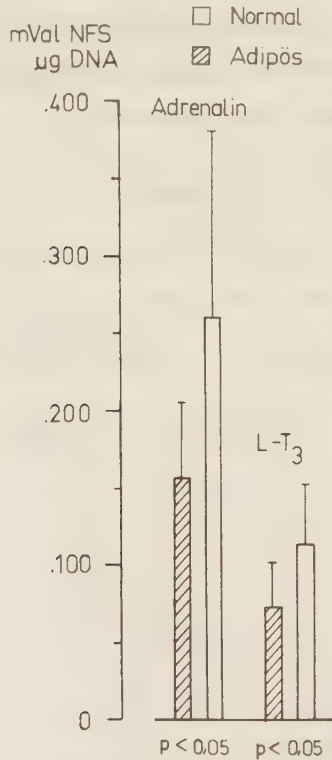


Abb. 10 NFS-Freisetzung beider Gruppen nach Adrenalin und L-T₃.

Als Maß für die stattgefundene Lipolyse sind die NFS allerdings weniger geeignet, da sie bekanntermaßen einer höheren Verstoffwechselung und Reveresterung unterliegen.

3) Ergebnisse der Lipolyse auf das Fettgewebsgewicht in Gramm bezogen

Wie oben bereits erwähnt, wurde neben dem DNA-Gehalt der Gewebeproben auch das Gewicht der zum Versuch verwendeten, präparierten Fettgewebsteilchen in Gramm als Bezugsgröße herangezogen. Abb. 11 und 12 zeigen eine Lipolysesteigerung

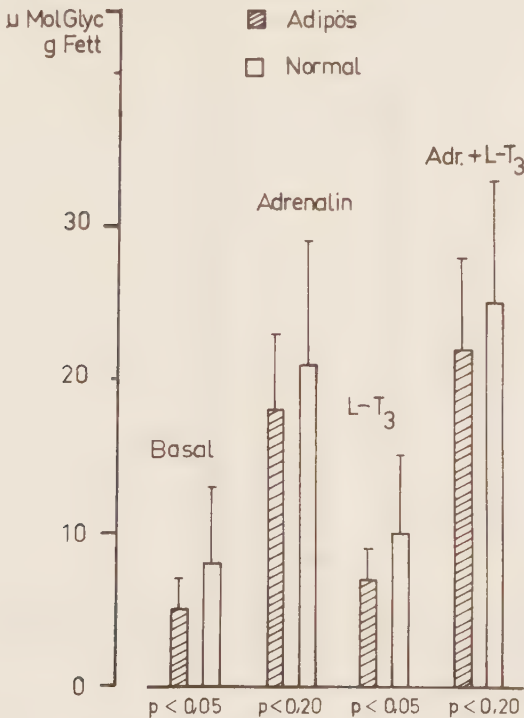


Abb. 11 Gesamtüberblick über die basale und hormonell stimulierte Lipolyse bezogen auf Fettgewebsgewicht.

gemessen in $\mu\text{Mol Glyc./g Fettgewebe}$ und $\text{mVal NFS/g Fettgewebe}$ bei den mit Hormonen inkubierten Proben beider Kollektive.

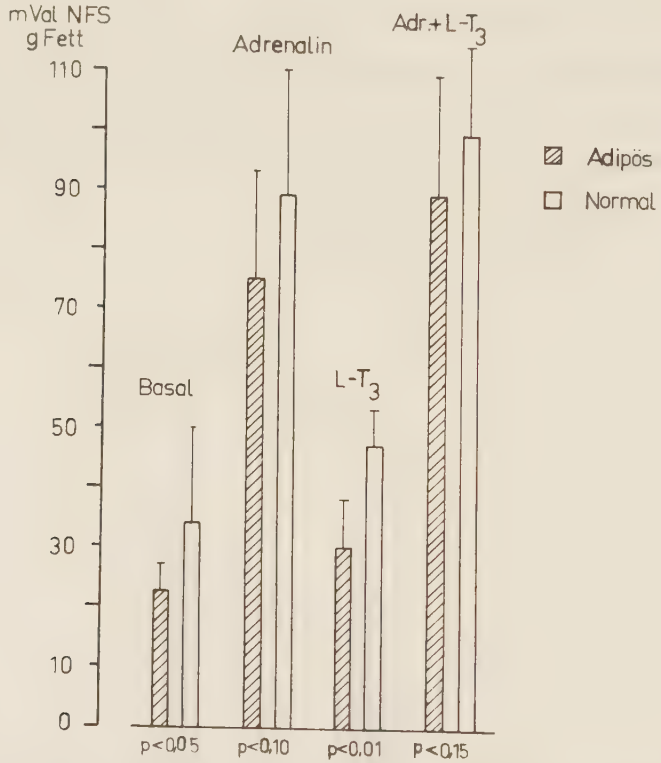


Abb. 12 Gesamtübersicht über die Fettsäurefreisetzung basal und nach hormoneller Stimulation.

Aus beiden Abbildungen geht weiter hervor, daß die Fettzellen normalgewichtiger Spender im Vergleich zu denen der adipösen mehr ansprechbar für den hormonellen Reiz sind. Deutlich ist der Unterschied bei den mit Adrenalin inkubierten Proben. Am augenfälligsten, sogar signifikant, ist die lipolytische Antwort auch hier nach L-T₃ Stimulation.

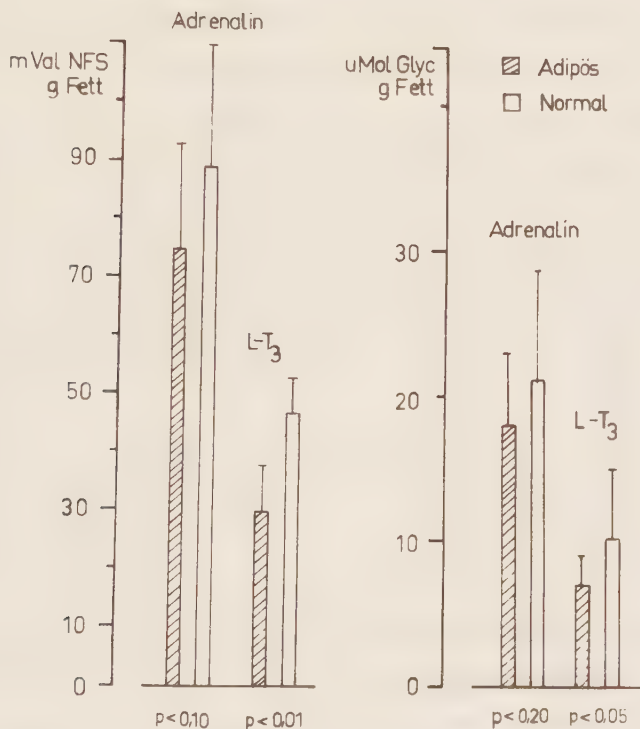


Abb. 13 Verhalten der Fettzellen beider Gruppen nach Adrenalin (4×10^{-6} molar) und L-T₃ (5×10^{-6} molar).

Nicht so deutlich ist der Unterschied zwischen Normalge-
wichtigen und Adipösen bei der Differenz von hormonell
stimulierter zu basaler Lipolyse.

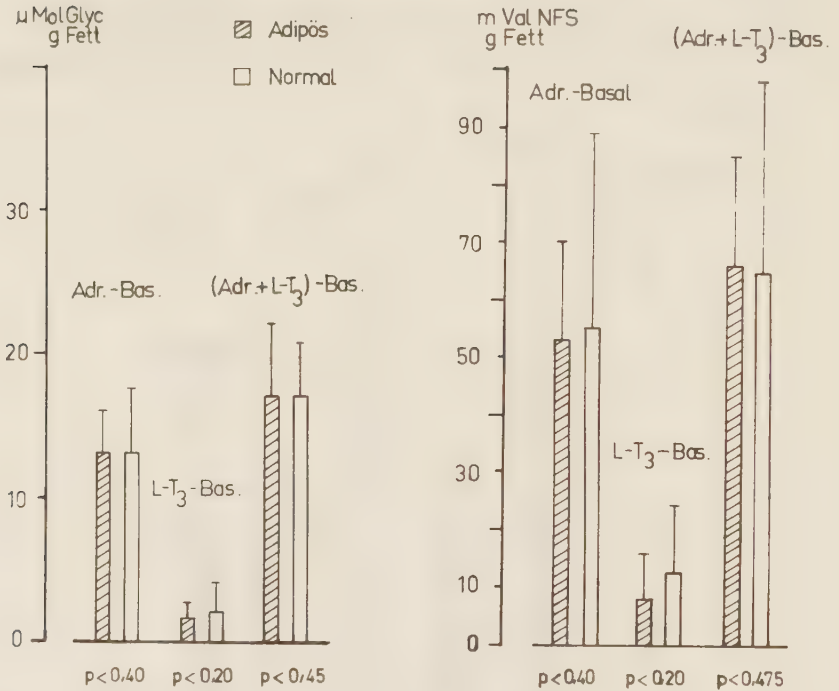


Abb. 14 Anstieg der hormonell stimulierten Lipolyse
über Basalniveau.

Der Grund für die genannten Meßergebnisse mag in der zwangs-
läufig ungenauen Relation von Fettgewicht und wirklicher

Fettzellmenge liegen. Der unterschiedliche, makroskopisch nicht erfaßbare Bindegewebsanteil der einzelnen Proben und sicher auch der Größenunterschied der Fettzellen mögen hier wirksam geworden sein. Da Adipöse bekanntlich über größere Zellen verfügen als Normalgewichtige (18), könnten in zwei Proben gleichen Gewichts unterschiedlicher Herkunft durchaus eine ungleiche Anzahl aktiver Zellen vorhanden sein. Derartige Faktoren würden dann den Unterschied zu einer Probe von einem normalgewichtigen Spender ausgleichen.

Im Trend zeigt sich auch bei der Beziehung aller gefundenen und auf Fettgewebe in Gramm bezogenen Werte eine Übereinstimmung mit denen, die nach der Beziehung auf den Zell-DNA-Gehalt ermittelt wurden. So waren diese Ergebnisse auch bei der Bezugsgröße "Fettgewicht" in einem allerdings nicht signifikanten Ausmaß reproduzierbar.

4) Zusammenfassung der Ergebnisse

Schlußendlich ist der hervorstechendste Befund ein deutlich signifikant geringeres Ansprechen der Fettzellen Adipöser auf den lipolytischen Effekt von $L-T_3$. Bemerkenswert ist, daß das stärkste lipolytisch wirksame Hormon Adrenalin eine nur schwach signifikante Differenz zwischen den Kollektiven A/N

aufwies. Die geringste Differenz der lipolytischen Aktivität in den Fettzellen von Normalgewichtigen und Übergewichtigen zeigte sich nach Inkubation mit der Kombination beider sich in der Stimulation potenzierender Hormone Adrenalin und Trijodthyronin.

IV. DISKUSSION

1) Z e l l i m m a n e n t e L i p o l y s e b e - r e i t s c h a f t

In der vorliegenden Studie konnte die zellimmanente gesenkte Lipolysebereitschaft der Fettzellen Adipöser, die sich in den vorausgehenden Versuchen von SCHNEIDER (4) als Tendenz zeigte, nachgewiesen werden. Dieses Verhalten der Zelle im Organismus des Übergewichtigen ist durchaus zu verstehen: Viele Faktoren verändern dessen Stoffwechselsituation. Dazu gehören die extrem hohen Insulinspiegel, die linear mit dem Grad der Fettsucht ansteigen (13). Oft wurde der hemmende Effekt des Insulins auf die bekannten lipolysesteigernden Hormone Adrenalin, Noradrenalin, ACTH, STH, T_4 , T_3 , Glucagon usw. beschrieben, der wahrscheinlich durch einen Eingriff in das c-AMP-bildende Adenyl-Cyclase-System, oder auch durch seinen Einfluß auf die Aktivierung und Deaktivierung einer Lipase zustande kommt (14,15).

Setzt man nun für einen Adipösen ein Insulinüberangebot voraus, sei es provoziert durch ein übermäßiges Angebot exogener Kohlenhydrate oder durch metabolische Besonderheiten wie gesteigerte zirkulierende Fettsäuren im Serum (16), so wird die verminderte lipolytische Aktivität zur logischen Folge. Andererseits erklärt sich ein gesteigerter Gewichtsverlust auf zusätzliche Gaben lipolytisch wirksamer Hormone, wie z.B. Schilddrüsenhormon bei fastenden Adipösen, da der Insulinspiegel dann sehr niedrig gehalten wird (17,33). Es war nun

interessant, die Reaktion der Einzelzelle im insulin- und nahezu glucosereichen Milieu, wie in den beschriebenen Versuchen, zu sehen. Bereits zeigte sich bei der Bestimmung der Basallipolyse eine zwar nicht signifikante, doch merklich gesteigerte Lipolysebereitschaft der Zellen Normalgewichtiger gegenüber denen der Adipösen.

Anhand der Untersuchungen über morphologische Besonderheiten der Zellen Fettsüchtiger von HIRSCH, KNITTLE, SALAANS und BJÖRNTORP (18,19,20) und den damit zusammenhängenden funktionellen Besonderheiten kann dieses Ergebnis nicht interpretiert werden. Zwar fand SCHNEIDER bereits eine verringerte unstimulierte zelleigene Lipolyse, die wir als Trend reproduzieren konnten. Die Zellgröße und Anzahl als ursächlichen Faktor wurde jedoch nicht untersucht, da sich dies in der vorausgehenden Studie nicht als aufschlußreich erwies (4).

Geht man davon aus, daß die Fettzelle eines Adipösen aufgrund einer vermehrten Fettspeichertätigkeit sich vergrößert (19), und/oder daß die Speichertätigkeit gegenüber der Lipolytischen überwiegt, könnte man einen räumlichen und zeitlichen Faktor als Ursache der verminderten Spontanlipolyse geltend machen.

HIRSCH (20) konnte andererseits in Versuchen mit Fettzellen Adipöser feststellen, daß nach Zellschrumpfung durch allgemeine Gewichtsreduktion die Sensibilität der Zellen auf

Insulin, die vorher deutlich vermindert war, zu steigern war und beibehalten werden konnte, solange Gewicht und damit die Größe der Adipocyten konstant blieben. Das führte auch zu einer Steigerung der vorher verminderten Glucoseoxydation auf adäquate Werte.

2) Reaktion der Fettzellen auf Adrenalin

Das wichtigste Ergebnis dieser Studie allerdings war die verringerte Stimulierbarkeit der Lipolyse in den Zellen Fettsüchtiger durch Adrenalin und $L-T_3$ in signifikanter Weise. Die lipolytische Wirkung des Adrenalins auf die menschliche Fettzelle beruht auf der Aktivierung des Adenylat-Cyclase-Systems zur Formation des c-AMP, das seinerseits über die Aktivierung einer Proteinkinase eine sogenannte "hormonsensitive Lipase" phosphoryliert und in eine aktive Form versetzt (21,22). CHALLONER fand, daß die adrenalin-stimulierte Lipolyse ATP-verbrauchende Stoffwechselwege umgeht und aus einem verstärkten Fettsäureabbau - unter Umgehung der Atmungskette - Energie gewinnt. Die Fettsäuren dienen allein als Substrat für die gesteigerte Oxygenkonsumption (23). GILBERT und GALTON konnten andererseits zeigen, daß die durch Isoprenalin und zugleich c-AMP induzierte Lipolyse, während einer von adipösen Patienten durchgeführten Fastenperiode mit ebenfalls gesteigerter Lipolyse

nicht wirksam ist (24). Das würde bedeuten, daß während einer Bedarfssituation die lipolytische Aktivität gesteigert, aber hormonell nicht weiter stimulierbar ist. Nach Abschluß der Fastenperiode konnte nach Isoprenalin sowohl eine Steigerung des c-AMP wie der Lipolyse wieder gezeigt werden (24). Durch umfassende Studien über die Enzymtätigkeit im Fettgewebe (Ratte, Schwein, Huhn) vermochte STEINBERG dies zu ergänzen: Adrenalin bewirkt im Fettgewebe neben der Stimulation der Lipolyse durch die Lipase auch eine rasche Aktivierung der Glycogen-Phosphorylase und rasche Deaktivierung der Glycogen-Synthese und übt damit einen Insulinantagonismus aus. Bei hungrigen Ratten konnte STEINBERG keinen entsprechenden Adrenalineffekt zeigen. Diese Ergebnisse machen die Kooperativität von Kohlenhydrat- und Lipidstoffwechsel in der Fettzelle offenkundig, die im Dienste der Depotmobilisation (zur Energiegewinnung) und der Depotanlegung bei normaler Nahrungsaufnahme stehen (21). In der Bedarfssituation (Hunger) interferieren nun zwei lipolytische Systeme miteinander und stellen dadurch möglicherweise einen Schutzmechanismus dar, um eine Überstimulierung der Lipolyse, etwa auf hormonellem Wege zu verhindern.

Auch Insulin ohne Glucose-Zufuhr zeigte keinen Einfluß auf die Glycogen-Synthetase-Ratio, die Phosphorylase stieg im Hunger auf das zweifache, c-AMP änderte sich nicht. Der Glycogengehalt der Fettzellen sank (21,25).

GILBERT und GALTON konnten in der oben erwähnten Studie eine gleiche Stimulierbarkeit von c-AMP durch Isoprenalin nach Ablauf der Fastenperiode zeigen (24), KJELBERG und OSTMANN bestätigten dies nicht, sondern fanden kein Ansteigen der c-AMP-Werte (26). Möglicherweise ist die Dauer der Fastenperiode und das Ausgangsgewicht der Patienten ausschlaggebend. Interessant ist, daß bei den Versuchen von GILBERT und GALTON das Fettgewebe der adipösen Patienten nach dem Fasten eine höhere Stimulierbarkeit der hormonellen Lipolyse mit erhöhtem c-AMP und Glycerin zeigt (24).

Ob nun während des Hungerns eine andere Lipase induziert oder ob nur eine Deaktivierung auf einer davorliegenden Stufe der HSL bewirkt wird, soll nicht Ziel dieser Untersuchung sein. Die herabgesetzte Stimulierbarkeit der Lipolyse in der Fettzelle des Adipösen ist der entscheidende Befund. Vielleicht bewirkt der übermäßige Glycogen- und Lipidgehalt der Zellen - dessen Zusammenhang noch nicht geklärt ist - eine Resistenz gegen das hormonelle System. Es scheint, als ob erst eine Bedarfssituation (d.h. Hunger) geschaffen werden müßte, um eventuell durch Normalisierung des Zellglycogen- und Lipidgehaltes die Reaktionsfähigkeit des Einzelelementes auf alle vorhandenen Kontrollmechanismen wieder herzustellen.

Ein weiterer in vivo-Adrenalineffekt, der in unseren Versuchen nicht wirksam wurde, ist die hemmende Beeinflussung des Clearing factor Lipase (oder Lipoproteinlipase). Dieses Enzym, das im menschlichen Fettgewebe, allerdings in gerin-

gerer Aktivität wie bei der Ratte, nachgewiesen werden konnte, ist verantwortlich für den Rücktransport von Plasmatri-glyceriden aus dem Blut in die extrahepatischen Gewebe (27,28,29). In der Fettzelle scheint eine inaktive Vorstufe des Enzyms lokalisiert zu sein, dessen wirksamen heparinabhängigen Partner an der Oberfläche der Kapillar-endothelien die Hydrolyse von Plasmatri-glyceriden obliegt. Dieses Enzym scheint einer hormonellen Kontrolle zu unterliegen, wobei Insulin die Konversion in die aktive Form begünstigt, Adrenalin dagegen die inaktive Form persistieren läßt. Im Hunger sinkt die Aktivität dieses Enzyms. Setzt man wirklich eine verminderte Sensibilität der Fettzelle des Adipösen für Adrenalin voraus, so würde dieser Faktor zur Förderung der Fettsucht und ihres Circulus vitiosus beitragen.

3) R e a k t i o n d e r F e t t z e l l e n a u f $L-T_3$

Noch weniger empfänglich als für Adrenalin scheinen die Fettzellen der Adipösen für $L-T_3$ als lipolytischen Stimulus zu sein. Bekannt ist, daß Schilddrüsenhormone bei Mensch und Ratte einen erhöhten NFS - Turnover und deren gesteigerte Oxydation bewirken (23). An isolierten Rattenfettzellen konnte CHALLONER ferner nachweisen, daß $L-T_3$ in physiologischer Konzentration Lipolyse und Sauerstoffver-

brauch anheben. ATP-verbrauchende Stoffwechselwege wurden hier wie bei Adrenalin umgangen. Es konnte aber keine signifikante Stimulation des Adenyl-Cyclase-Systems und damit der HSL gezeigt werden. Unbeeinflusst war durch $L-T_3$ auch die das c-AMP spaltende Phosphodiesterase. TAKASU (30) fand, daß trotz der $L-T_3$ -spezifischen hemmenden Wirkung auf das Adenyl-Cyclase-System im Schilddrüsengewebe eine derartige Wirkung im Fettgewebe nicht vorhanden ist.

FERNANDEZ (31) konnte ergänzend eine Erhöhung des Plasma c-AMP ohne eine merkliche Änderung von c-AMP (u.c-GMP) im Fettgewebe zeigen. Es scheint sich also bei der $L-T_3$ -Wirkung vielmehr um eine intracelluläre, gegenregulatorische Komponente der Fettsynthese und Speicherung zu handeln, die damit der Aufrechterhaltung einer notwendigen Energieversorgung des Organismus z.B. im Hunger dient. $L-T_3$ induziert eine mitochondriale α -Glycerophosphat-Dehydrogenase und limitiert damit die Lipogenese (16). An $L-T_3$ -behandelten Ratten wies RONCARI eine signifikante Abnahme der FS-Synthetase und des Acetyl-CoA im Nebenhodenfettgewebe nach, dagegen einen Anstieg dieser Enzyme in der Leber, der im Falle der FS-Synthetase durch eine Änderung des Enzym-Proteingehalts bedingt war (32).

Ganz entscheidend scheint in vivo der Insulinspiegel die Schilddrüsenhormonwirkung zu beeinflussen. So wurde bei weiblichen Adipösen, die sich einer Nulldiät unterzogen, eine signifikant forcierte Gewichtsabnahme beobachtet, nachdem ihnen geringe Dosen von $L-T_3$ verabreicht wurden (33).

SCRIBA und Mitarb. fanden, daß Adipöse einen signifikant erniedrigten, aber noch im euthyreoten Bereich liegenden Schilddrüsenhormonspiegel im Plasma haben (34). Die Ergebnisse der vorliegenden Studie zeigen nun eine verringerte Reaktionsbereitschaft der Fettzellen Adipöser auf $L-T_3$ und es ist unklar, in welchem Zusammenhang beide Befunde miteinander stehen.

Eine Erklärung für die gefundene Zellreaktion mag einmal ein erschwertes Eindringen des $L-T_3$ Moleküls in die Fettzelle aus noch nicht bekannten morphologischen Ursachen sein. Ein ähnlicher Mechanismus spielt nach NIELSEN und LOCKWOOD für Glucagon eine Rolle. Es kommt im Fettgewebe übergewichtiger Ratten zu einer Abnahme der spezifischen Rezeptoren (35,36). Denkbar wäre auch, daß die physiologische Konzentration des Schilddrüsenhormons für einen optimalen Turnover innerhalb einer Zelle mit überreichen Energiereserven zu gering ist.

4) Reaktion der Fettzellen auf Adrenalin in Kombination mit $L-T_3$

Die wichtigste Rolle des $L-T_3$ scheint aber, wie etliche Autoren in den letzten Jahren zeigen konnten, in der Interaktion mit anderen lipolytischen Hormonen, vor allem dem Adrenalin zu liegen. ROSENQUIST konnte eine Veränderung

der Tätigkeit adrenerger Rezeptoren im Fettgewebe hypothyreoter Ratten zeigen. Die α -rezeptorische Tätigkeit nahm im hypothyreoten Zustand zu und wirkte antagonistisch auf die durch β -Rezeptoren stimulierte c-AMP-Formation. Eine Störung des Adenyl-Cyclase-Systems konnte dabei ausgeschlossen werden (37,38). Das gleiche Ergebnis ergaben Untersuchungen am Fettgewebe hypothyreoter Patienten (37). In unveränderter Weise konnte bei diesen Patienten, die nur zum Teil übergewichtig waren, eine Lipolyse durch Noradrenalin stimuliert werden (37).

Große Bedeutung scheint die Beeinflussung einer c-AMP-affinen Phosphodiesterase durch Schilddrüsenhormon zu haben. Unabhängig voneinander fanden dies mehrere Laboratorien. Diese Phosphodiesterase scheint intracellulär mikrosomal lokalisiert zu sein. Ihre Aktivität ist Substrat- also c-AMP-abhängig. Ohne Einfluß auf die Bildung des c-AMP durch die Adenylat-Cyclase, verhindert dieses Enzym die Anhäufung des c-AMP durch seine rasche Hydrolyse. Im Gegensatz zur der mikrosomalen low- K_m Phosphodiesterase, ist die soluble high- K_m Form des Enzyms nicht der Kontrolle durch Schilddrüsenhormon unterworfen (39,40,41). CORREZZE konnte zeigen, daß im athyreoten Zustand die Aktivität dieses Enzyms übernormal hoch ansteigt und eine Kumulation von c-AMP verhindert. Trotz maximaler Adrenalinstimulation blieb jede lipolytische Antwort der Fettzellen aus (40). VAN IMWEGEN kam zu einem gleichen Ergebnis. Die c-AMP abhängige Protein-

kinase und damit die HSL konnte bei hypothyreoten Tieren nur basale Werte erreichen. Die Phosphodiesterase wirkt also wahrscheinlich auf einer Stufe zwischen Adenylat-Cyclase und Protein-Kinase-Lipase.

In den beschriebenen Versuchen zeigten nun die Zellen Adipöser auf den Stimulus Adrenalin + L-T₃ eine verminderte lipolytische Reaktion, die aber nicht so signifikant war wie nach der Inkubation der Zellen mit beiden Hormonen allein. Dies beweist die Kooperativität beider Hormone. Eine Interpretation des Zellverhaltens kann weder für den Normalgewichtigen, noch den Adipösen gegeben werden, da das genaue Zusammenspiel beider Hormone noch nicht völlig geklärt ist.

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß dem äußerst potenten antilipolytischen System Insulin eine Reihe hormoneller Kontrollmechanismen entgegengestellt sind, die, wie auch aus der Untersuchung der isolierten Zelle hervorgeht, im Zellinnern zusammenarbeiten. Ihnen gegenüber steht ein weiteres lipolytisches System, das offenbar wirksamste, die Bedarfs-situation an sich, der Hunger. Es scheint, als schalte dieses System die Kontrollmechanismen zurück, sei es über die Induktion anderer Lipasen, sei es durch Substrate aus dem massiven Mobilisationsvorgang, oder durch ein Zusammenspiel von beidem. Im normalen Stoffwechsel unterliegen vielleicht die hormonell-induzierten Enzyme einem Substrat-feedback. Im Organismus eines sich über längere Zeit hochkalorisch

Ernährenden aber kann möglicherweise dieses einfache Angebot-Nachfrage-System nicht mehr eingehalten werden. Zwangsläufig würde das Gleichgewicht Lipolyse - Lipogenese in Richtung Lipogenese verschoben. Die vermehrte Depot-speicherung und die daraus resultierende Fettsucht programmiert mit dem Gesamtmetabolismus auch den der Einzelzelle um. Diese Zellen werden dann vielleicht entweder in einer noch nicht genau bekannten Weise morphologisch verändert oder sie entwickeln eine Resistenz gegenüber momentanen lipolytischen Reizen wie Adrenalin oder $L-T_3$ in vivo wie in vitro

Als Konsequenz würde sich dann die Herstellung einer Bedarfssituation, die diese Zellen zwingt ihre lipolytische Potenz auf normalem Wege wieder voll zu entwickeln, ergeben. Damit erwies sich eine Nulldiät als Mittel der Wahl. Sie schafft physiologisch optimale Bedingungen zur Neueinstellung eines desorganisierten Organismus und seines Einzelelementes, der Fettzelle.

V. ZUSAMMENFASSUNG

1. Die Fettzellen Adipöser zeigen nach Stimulation der Lipolyse mit $L-T_3$ eine signifikant herabgesetzte Lipolysebereitschaft gegenüber den Fettzellen Normalgewichtiger.
2. Nach Stimulation der Lipolyse mit Adrenalin zeigen die Fettzellen Adipöser ebenfalls eine verringerte Reaktionsbereitschaft.
Nach Adrenalin und $L-T_3$ in Kombination ergaben die vergleichenden Untersuchungen keine signifikante, doch deutlich verminderte Lipolysebereitschaft der Fettzellen Adipöser gegenüber denen der Normalgewichtigen.
3. Die Ursachen dieser unterschiedlichen Reaktion kann durch eine Verringerung spezifischer Rezeptoren an der Fettzelle des Übergewichtigen bedingt sein.
Auch ein Überangebot an Substrat könnte eine gewisse Resistenz dieser Zelle gegenüber dem hormonellen Kontrollsystem entwickeln.
Die conditio sine qua non der Adipositas therapie ist konsequentes Fasten. Eine Unterstützung kann durch minimale Gaben von Schilddrüsenhormon erfolgen.

LITERATURVERZEICHNIS

- 1) ELKELES, R.S.: Lipoprotein Lipase in Human Adipose Tissue.
Clin. Sci. Mol. Med. 46 (1974), 753
- 2) KRICK, L.O.: Der Einfluß der Schilddrüsenhormone, des Adrenalins, Wachstumshormons und Dexamethasons auf den Kohlenhydrat- und Fettstoffwechsel isolierter Rattenfettzellen.
Diss. 1973
- 3) ETSCHENBERG, E.: Anästhesie mit Droperidol und Fentanyl.
Arzneimittelforschung 23. Beiheft (1973), 120
- 4) SCHNEIDER, G.: Stoffwechseluntersuchungen an der isolierten menschlichen Fettzelle.
Diss. 1974
- 5) RODBELL, M.: Metabolism of isolated fat cells. I. Effect of hormones on glucose metabolism and lipolysis.
J. Biol. Chem. 239 (1964), 375
- 6) KREUTZ, F.H.: Enzymatische Glycerinbestimmung.
Klin. Wschr. 40 (1962), 362
- 7) DUNCOMBE, W.: The calorimetric micro-determination of long chain fatty acids.
J. Biochem. 88 (1963), 7
- 8) DIETERLE, P., WÜLFERT-HELDRIICH, C., HENNER, J., SCHWARZ, K.: Erfahrungen mit einer kalorimetrischen Methode zur Bestimmung der nichtveresterten Fettsäuren im Serum.
Z. Klin. Chem. u. Klin. Biochem. 6 (1968), 4

- 9) MARMUR, J.: A Procedure for the Isolation of Desoxyribonucleic Acid from Microorganism.in:
In: Methods in Enzymology, Vol.VI, Seite 726,
Academic Press 1963
- 10) MARMUR, J.: A Procedure for the Isolation of Desoxyribonucleic Acid from Microorganisms.
J. Mol. Biol. 3 (1961), 208
- 11) CERIOTTI, G.: A Microchemical Determination of Desoxyribonucleic Acid.
J. Biol. Chem. 198 (1952), 208
- 12) DISCHE, Z.: Color Reaction of nucleic Acid Components.
In: The Nucleic Acids Vol. I, Seite 285
Academic Press Inc. 1955
- 13) BAGDADE, J.D., BIERMANN, E.L., PORTE, D.: The significance of basal insulin levels in the evaluation of the insulin response to glucose in diabetics and nondiabetic subjects.
J. Clin. Invest. 46 (1967)
- 14) RENNER, R., KEMMLER, W., HEPP, K.D.: Antagonism of Insulin on lipolytic Hormones in the Control of Adenyl-Cyclase Activity in Fat Cells.
Eur. J. Biochem. 49 (1974), 129
- 15) STEINBERG, D.: Hormonal Control of Lipolysis in Adipose Tissue.
Adv. Exp. Med. Biol. 26 (1972), 77
- 16) HOFMANN, G.G.: Endokrinologische und metabolische Befunde bei der Fettsucht.
Med. Klinik 43 (1972), 1385

- 17) HOFMANN, G.G., KRICK, L., SOUVATZOGLU, A., BOTTERMANN, P.,
SCHWARZ, K.: Der Einfluß des L-Trijodthyronins auf den
Glucoseumsatz und die Lipolyse isolierter
Fettzellen der Ratte.
Verhandlg. d. Dtsch. Ges. f. innere Medizin
77 (1971), 660
- 18) HIRSCH, J.: Adipose Cellularity in Relation to Human
Obesity.
Adv. Intern. Med. 17 (1973), 289
- 19) BJÖRNTORP, P.: Effects of Age, Sex and Clinical Conditions
on Adipose Tissue Cellularity in Man.
Metabolism 23 (1974), 1091
- 20) SALAANS, L.B., KNITTLE, J.C., HIRSCH, J.: The Role of
Adipose Cell Size and Adipose Tissue Insulin
Sensitivity in the Carbohydrate Intolerance
of Human Obesity.
J. Clin. Invest. 47 (1968), 153
- 21) STEINBERG, D., MAYER, S.E., KHOO, J.C., MILLER, E.A.
MILLER, R.E., FREDHOLM, B., EICHNER, R.: Hormonal Regula-
tion of Lipase, Phosphorylase and Glycogen
Synthetase in Adipose Tissue.
Adv. Cyclic Nucleotide Res. 2 (1975), 549
- 22) KISSEBAH, A.H., TULLOCH, B.R., VYDELINGUM, N., FRASER, T.R.:
Purification and Properties of a cAMP protein
kinase from human adipose tissue.
Diabetologica 2 (1973)
- 23) CHALLONER, R.D.: Control of Respiration in intact Tissues
and the Effects of Triiodothyronin and
Epinephrin in Fat Cells.
Horm. Metab. Res. 2 Suppl. 2 (1970), 80

- 24) GILBERT, C.H., GALTON, D.J.: The Effect of Catecholamines and Fasting on Cyclic AMP and Release of Glycerol from Human Adipose Tissue. Horm. Metab. Res. 6 (1974), 229
- 25) JUNGAS, R.L., SCHWATZ, J.P.: Studies on Lipase of Adipose Tissue. Horm. Metab. Res. 2 Suppl. 2 (1970), 37
- 26) KJELBERG, J., OSTMANN, J.: Lipolysis and Glucose Tolerance in obese Subjects during prolonged Starvation. Acta med. Scand. 190 (1971), 191
- 27) DAVIES, P., CRYER, ROBINSON, D.S.: Hormonal Control of Adipose Tissue Clearing factor lipase activity. Febs Lett. 45 (1974), 271
- 28) LOEFFLER, G., WEISS, L.: Lipase Activities in adipose Tissue. Horm. Metab. Res. 2 Suppl. 2 (1970), 32
- 29) ELKELES, R.S.: Lipoproteinlipase in Human Adipose Tissue. Clin. Sci. Mol. Med. 46 (1974), 753
- 30) TAKASU, N. et al: Inhibitory Action of Thyroid Hormon on the Activation of Adenyl-Cyclase-Cyclic-AMP System by thyroidstimulating Hormon in Human Thyroid Tissues from Euthroid and Thyrotoxic Patients. J. Clin. Endocrinol. Metab. 39 (1974), 772
- 31) FERNANDEZ-POL, J.A., HAYS, M.T.: Alterations in Cyclic Nucleotides in Dogs after Triiodothyronin. Acta endocrinol. (KBH) 79 (1975), 66

- 32) RONCARI, D.A., MURTHY, V.K.: Effect of thyroie hormones on enzymes involved in Fatty acid and Glycerolipidsynthesis.
J. Biol. Chem. 250 (1975), 4134
- 33) HOFMANN, G.G., LAMPL, L.L., HORN, K., RALPHS, V., SCHWARZ, K.: Der Einfluß der Schilddrüsenhormone auf die Gewichtsreduktion und den Fettstoffwechsel bei Adipösen unter einer Nulldiät.
Verhandlungen d. Dtsch. Ges. f. Innere Med. 78 (1972), 1294
- 34) SCRIBA, P.C., RICHLER, I., HORN, K., BECKEBANS, I., SCHWARZ, K.: Zur Frage der Schilddrüsenfunktion bei Adipositas.
Klin. Wschr. 45 (1967), 323
- 35) HANSEN, M., NIELSEN, J.H., GLIEMANN, J.: The Influence of Body Weight and Cell Size on Lipogenesis of isolated Rat Fat Cells.
Eur. J. Clin. Invest. 4 (1975), 411
- 36) LOCKWOOD, D.H., LIVINGSTON, J.N.: Studies of glucagon resistance in large rat adipocytes.
Diabetes Federation, Abstr. Nr. 165 (1973)
- 37) ROSENQUIST, U.: Noradrenalin induced lipolysis in subcutaneous adipose tissue from hypothyroid subjects. The Relation of noradrenaline response to the Degree and duration of the Disease.
Acta Med. Scand. 192 (1972), 361
- 38) ROSENQUIST, U.: Adrenergic Receptor Response in Hypothyroidism. An in vitro Study on human adipose tissue and rabbit aorta.
Acta Med. Scand. 532 (1972), 1

- 39) PAWLSON, L.G., LOVELL-SMITH, C.J., MANGIANELLO, V.C.,
VAUGHAM, M.: Effects of epinephrine, adrenocorticotrophic
hormone and theophylline on adenosine 3'5'-
Monophosphate Phosphodiesterase activity in
fat cells.
Proc. Natl. Acad. Sci. USA 71 (1974), 1639
- 40) COREZZE, C., LAUDAT, M.H., LAUDAT, P., NUNEZ, J.:
Hormone-dependent lipolysis in fat-cells
from thyreoidektomized rats.
Mol. Cell Endocrinol. 1 (1974), 309
- 41) ARMSRONG, K.J., STOUFFER, J.E. VAN IMWEGEN, R.G.,
THOMPSON, W.J., ROBINSON, G.A.: Effects of thyroid
hormone deficiency on cyclic adenosine
3'5'-Monophosphate and control of lipolysis
in fat cells.
J. Biol. Chem. 249 (1974), 4226
- 42) VAN IMWEGEN, R.G., ROBINSON, G.A., THOMPSON, W.J.:
Cyclic nucleotide Phosphodiesterases and
thyroid hormones.
J. Biol. Chem. 250 (1975), 250

ANHANG

1. Substanzen zur Fettzellisolierung

a) Inkubationsmedium = Albumin - KRB - Puffer

10 mg% Glucose

2 g% Rinderalbumin Lösungsmittel KRB-Puffer

aa) KRB-Puffer

200 ml Stocklösung

a. dest. ad 1000 ml, davon 160 ml verwerfen

160 ml NaHCO_3 -Lösung zufügen

ab) Stocklösung

40 ml 5.75 g% KCL-Lösung

10 ml 6.75 g% KH_2PO_4 -Lösung

10 ml 19.10 g% MgSO_4 -Lösung

30 ml 6.10 g% CaCl_2 -Lösung

45 g NaCl

a. dest. ad 1000 ml

ac) NaHCO_3 -Lösung

10 g NaHCO_3

a. dest. ad 1000 ml

b) Collagenase-Lösung

Collagenase der Fa. Worthington aus Cl. histolyticum
speziell zur Isolierung menschlicher Fettzellen.

20 mg Collagenase gelöst in

4 ml KRB-Albumin-Puffer ergibt 1000 U/ml

c) Adrenalin-Lösung

18,3 mg Adrenalin (kristallin) in

100 ml HCl n/200 davon

1,2 ml in 100 ml KRB-Albumin-Puffer ergibt

$12 \cdot 10^{-6}$ molare Lösung

d) L - T₃ - Lösung

3,3 mg L-T₃ in

1,0 ml NaOH 0,1 M lösen, dazu

4,0 ml a. bidest., davon

1,0 ml in 9,0 ml KRB-Albumin-Puffer , ergibt

$15 \cdot 10^{-6}$ molare Lösung

Wegen der geringen L-T₃ Menge empfiehlt es sich, die
10-fache Menge anzusetzen und entsprechend zu verdünnen.

2. Substanzen zur DNA - Isolierung und Bestimmung

a) NA-lauryl-sulfatslösung 25%

2,5 g Na-lauryl-sulfat

ad 10 ml a. dest.

b) NA-Perchloratlösung 5 M

70,23 g NaClO_4

ad 100 ml a. dest.

c) Chloroform/Isoamylalkohol

Mischung 24 : 1 (v:v)

d) Indollösung 0,04%

40 mg Indol

ad 100 ml a. dest.

Lösen in warmem Wasser (ca. 5 ml, dann nach Abkühlung
ad 100 ml auffüllen).

e) Saline-EDTA-Lösung

0,88 g NaCl (0,15 M)

0,72 g Titriplex III (0,1 M)

ad 100 ml a. dest.

f) SSC (Citrat) - Puffer

Konz.: 87,75 g NaCl

0,15 M 44,10 g Na-Citrat . 2 H_2O

ad 1000 ml a. dest.

0,015 M: 10 ml konz. SSC-Puffer

90 ml a.dest.

0,0015 M: 1 ml konz. SSC-Puffer

99 ml a. dest.

g) DNA-Eichlösung

1 mg DNA aus Kälberthymus wird in zuerst verdünntem, dann konzentriertem SSC-Puffer so gelöst, daß eine Lösung mit 100 µg DNA/ml entsteht.

Herrn Prof. Dr. Kurt SCHWARZ danke ich für die Überlassung des Themas. Besonders herzlichen Dank an Herrn Dr. G.G. HOFMANN für seine Hilfsbereitschaft. Herrn HENNER danke ich für die Hilfeleistung bei den technischen Dingen. Fräulein HAAG danke ich für die Erstellung der Abbildungen.

Besonders danke ich Herrn Prof. Dr. G. HEBERER, dem Leiter der Chirurgischen Universitätsklinik München und Herrn Priv.Do. Dr. F.W. SCHILDBERG, die mir die Durchführung der Versuche ermöglichten. Für ihre stete Hilfsbereitschaft danke ich ganz herzlich Herrn Prof. Dr. BEDACHT, Priv.Do. Dr. G. FEIFEL, Dr. SPELSBERG, Dr. ZUMTOBEL, Herrn Dr. HÖHNE, Dr. HOFFMANN, Dr. ZIMMERMANN.

Am 3.3.1947 wurde ich in Weiden i.d. Oberpfalz geboren. Meine Eltern sind der Chefarzt Dr. med. Bernhard Zrenner und seine Frau Dr. med. Wilhelmine Zrenner, geb. Rechenmacher. Beide sind am Kreiskrankenhaus Erbendorf i.d. Oberpfalz tätig. Nach dem Besuch der Volksschule in Regensburg trat ich 1957 in das dortige Humanistische Gymnasium über und legte hier 1966 das Abitur ab. Vom Wintersemester 1966/67 bis zum Wintersemester 1969/70 studierte ich Theaterwissenschaft und Germanistik an der Universität München. Im Sommersemester 1970 begann ich an der gleichen Universität das Studium der Humanmedizin, legte im Frühjahr 1971 das Vorphysikum und im Herbst 1972 das Physikum ab. Am 11.12.1975 beendete ich mit bestandenem Staatsexamen an der Universität München das Medizinstudium.

